

Pengaruh Penambahan Berbagai Kombinasi Konsentrasi 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan 6-Benzil Aminopurin (BAP) pada Media MS terhadap Tekstur dan Warna Kalus Eksplan Batang Jati (*Tectona grandis* Linn. F.) "JUL"

Novita Sari, Evie Ratnasari, Isnawati

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

ABSTRAK

Tanaman jati (*Tectona grandis* Linn. F.) "JUL" merupakan salah satu tanaman jati yang memberikan kontribusi nyata dalam menyediakan bahan baku kayu. Meningkatnya kebutuhan kayu jati baik di dalam maupun di luar negeri dan siklus umur panen jati konvensional relatif lama memberikan permasalahan untuk pemenuhannya, oleh karena itu diperlukan teknik untuk memproduksi tanaman secara cepat dan seragam. Teknik kultur jaringan merupakan salah satu cara dalam mengatasi permasalahan ini. Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan ialah keberadaan zat pengatur tumbuh (ZPT), yang antara lain 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan 6-Benzil Aminopurin (BAP). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap tekstur dan warna kalus batang jati yang dihasilkan. Pengambilan data dilakukan dengan metode pengamatan visual kalus. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan tekstur dan warna kalus pada tiap perlakuan. Berdasarkan hasil analisis data diketahui, bahwa kalus memiliki tekstur yang kompak dengan warna yang berbeda di setiap perlakuan.

Kata kunci: kalus jati JU, 2,4-D; BAP; *in vitro*

ABSTRACT

Teak (*Tectona grandis* Linn. F.) "JUL" is one of the teak that the able to contribute to the supply of wood raw material. Demand of teak is increasing both at home and abroad, we need a method that could generate a lot of teak plants, rapid and uniform. One way to overcome this problem is by tissue culture techniques. Many factors influence plant growth, one of them is plant growth regulators (PGR), includes 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) and 6-Benzyl Aminopurin (BAP). The purpose of this research determined the effect of PGR for textures and colours of teak trunk's callus. The method used is the visual observation of callus. Data were analyzed by description with comparated textures and colours of callus. Callus have compact textures and different colours from each treatment.

Keywords : JUL's callus; 2,4-D; BAP, *in vitro*

PENDAHULUAN

Tanaman jati merupakan salah satu tanaman yang mampu memberikan kontribusi nyata dalam menyediakan bahan baku kayu. Kelebihan jati tidak hanya terletak pada kualitas kayu yang sangat bagus dan bernilai ekonomis, tetapi juga karena sifat silvikulturnya (ilmu tentang pembudidayaan pohon hutan atau ilmu pembinaan hutan, misalkan tentang penanam-an, pemeliharaan, pelestarian hutan, dan merupakan dasar dari ilmu kehutanan) sehingga peluang penelitian dan pengembangan nya dapat mudah dilakukan, oleh karena itu bukan suatu yang mengherankan jika banyak negara saat ini tertarik untuk meneliti dan mengembangkan jati. Salah satu jati yang digunakan dalam penelitian ialah Jati Unggul Lamongan (JUL) yang diproduksi

oleh Kebun Bibit Permanen (KBP) Kabupaten Lamongan dengan nama ilmiah *Tectona grandis* Linn. F.

JUL merupakan tanaman jati unggulan dari Kabupaten Lamongan yang diproduksi oleh Kebun Bibit Permanen (KBP) Kabupaten Lamongan. Tanaman jati yang diproduksi KBP ini memiliki beberapa keunggulan, yaitu mempunyai daur hidup pendek (sekitar 15 tahun) dan memiliki sedikit cabang, sehingga tanaman jati ini dapat digunakan sebagai sumber eksplan dalam kultur jaringan.

Teknik kultur jaringan pada dasarnya memanfaatkan prinsip perbanyakan tumbuhan secara vegetatif dalam kondisi aseptik di dalam botol kultur dengan medium dan kondisi tertentu, sehingga teknik ini sering kali disebut kultur *in*

vitro. Beberapa kelebihan dari penggunaan teknik kultur jaringan dibandingkan dengan cara konvensional ialah (1) faktor perbanyakan tinggi, (2) tidak tergantung pada musim karena lingkungan tumbuh *in vitro* terkendali, (3) bahan tanaman yang digunakan sedikit sehingga tidak merusak pohon induk, (4) tanaman yang dihasilkan bebas dari penyakit meskipun dari induk yang mengandung patogen internal, (5) tidak membutuhkan tempat yang sangat luas untuk menghasilkan tanaman dalam jumlah banyak.

Tujuan utama dari penelitian kultur jaringan ini ialah memperoleh kalus yang nantinya akan menghasilkan *plantlet* yang bebas penyakit yang disebabkan oleh bakteri, jamur, virus ataupun mikroorganisme parasitik lainnya. Semakin kecil *eksplan* yang diambil dari jaringan yang aktif membelah, maka semakin besar kemungkinan *eksplan* terbebas dari serangan patogen mikroorganisme (Katuuk, 1989).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan mikropropagasi terbagi ke dalam 3 golongan besar, antara lain : *eksplan*, media dan lingkungan. *Eksplan* ialah bagian kecil jaringan atau organ yang dikeluarkan atau dipisahkan dari tanaman induk kemudian dikulturkan, namun keberhasilan pengkulturan *eksplan* tergantung pada faktor yang dimiliki oleh *eksplan* itu sendiri. Faktor tersebut meliputi ukuran, umur fisiologis, sumber serta genotip *eksplan* (Hughes dalam Katuuk, 1989).

Menurut Santoso dan Nursandi dalam Andaryani (2010) menyatakan bahwa arah perkembangan kultur ditentukan oleh interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diproduksi oleh sel tanaman secara endogen, sebab di dalam *eksplan* itu sendiri sebenarnya sudah ada zat pengatur tumbuh endogen, tapi dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman secara *in vitro* zat pengatur tumbuh eksogen masih ditambahkan.

Peran auksin ialah merangsang pemanjangan dan perbesaran sel yang terdapat pada pucuk tanaman dan menyebabkan pertumbuhan pucuk-pucuk baru. Penambahan auksin dalam jumlah yang lebih besar, atau penambahan auksin yang lebih stabil, seperti asam 2,4-D cenderung menyebabkan terjadinya pertumbuhan kalus dari *eksplan* dan menghambat regenerasi pucuk tanaman (Natsir, 2002).

Pada umumnya media perbanyakan *in vitro* yang menggunakan zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin, seperti BAP (6-Bensil Aminopurin) merupakan salah satu zat pengatur tumbuh yang banyak digunakan untuk memacu

pembentukan tunas dengan daya aktivitas yang kuat mendorong proses pembelahan sel (George dan Sherrington dalam Andaryani, 2010). BAP merupakan salah satu sitokinin sintetik yang aktif dan daya merangsangnya lebih lama karena tidak mudah dirombak oleh enzim dalam tanaman. BAP memiliki struktur yang mirip dengan kinetin dan juga aktif dalam pertumbuhan dan proliferasi kalus, sehingga BAP merupakan sitokinin yang paling aktif.

Kalus merupakan jaringan yang amorphous (tidak berbentuk atau belum terdiferensiasi) yang terbentuk ketika sel tanaman mengalami pembelahan yang tidak teratur. Terbentuknya kalus merupakan akibat dari perlukaan pada permukaan *eksplan* dan pengaruh perlakuan zat pengatur tumbuh yang diberikan pada media kultur (Zulkarnain, 2009). Berdasarkan penjelasan di atas, maka dilakukan penelitian dengan judul Pengaruh Penambahan Berbagai Kombinasi Konsentrasi 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan 6-Bensil Aminopurin (BAP) pada Media MS terhadap Tekstur dan Warna Kalus Batang Jati (*Tectona grandis* Linn. F.) "JUL"

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain, *eksplan* batang tanaman jati, media MS, yaitu larutan stok media MS, vitamin, gula, akuades, alkohol 96% dan 70%, agar bubuk, KOH 1 M dan HCl 1 M.

Alat yang digunakan dalam penelitian ialah botol media, neraca digital, kertas label, *tissue*, *beaker glass*, gelas ukur, spatula, *sputit*, pipet, pinset, *scalpel*, pembakar spirtus, panci, pengaduk kayu, kompor, pH-meter, tabung reaksi, *handsprayer*, cawan petri, autoklaf, oven sterilisasi, *stirer* dan *laminar air flow cabinet*.

Penelitian diawali dengan persiapan alat dan bahan dengan melakukan sterilisasi. Sterilisasi alat menggunakan oven dengan suhu 80°C selama 60 menit. Media diautoklaf pada tekanan $\pm 1,4$ kg/cm² dan suhu $\pm 121^\circ\text{C}$ selama 20 menit. *Laminar air flow cabinet* disterilisasi dengan alkohol 96% dengan cara disemprotkan dan dilap yang kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan lampu UV setiap akan dilakukan kerja pada *laminar air flow cabinet*.

Pembuatan media MS diawali dengan memasukkan akuades sebanyak 200 ml kedalam *beakerglass* kemudian ditambahkan larutan stok media A, B dan C masing-masing 15 ml. Vitamin ditambahkan 15 ml. Gula ditambahkan ke dalam campuran sebanyak 45 g sambil diaduk sampai

larut. Akuades ditambahkan sedikit demi sedikit sambil diaduk, semua larutan dihomogenkan. pH larutan diukur, jika terlalu basa ditambahkan HCl 1M dan jika terlalu asam ditambahkan KOH 1M sehingga diperoleh pH sebesar 5,6-5,8. Akuades ditambahkan sampai volume 1,5 liter. Larutan dimasukkan ke dalam panci yang sebelumnya ditambahkan agar 10,5 gram, kemudian diaduk sampai tercampur dengan larutan. Media dididihkan di atas kompor.

Media diangkat dan dituangkan ke dalam *beakerglass* setelah media mendidih. Media dibagi ke dalam 4 bagian, A, B, C dan D. 25 ml zat pengatur tumbuh ditambahkan sesuai kombinasi 2,4-D dan BAP di tiap perlakuan. Campuran media dan zat pengatur tumbuh diaduk menggunakan spatula sampai homogen. Media dimasukkan ke dalam botol kultur yang telah disterilkan sebelumnya dengan volume tiap botol antara 39 ml sampai 41 ml dan dilakukan penutupan dengan plastik PP. Media disterilkan dengan autoklaf selama 20 menit dan apabila dalam waktu tiga hari tidak terjadi kontaminasi, maka media siap digunakan.

Inokulasi *eksplan* diawali dengan sterilisasi ruangan dan *laminar air flow*, dilakukan dengan menyalakan lampu UV selama kurang lebih 2 jam yang sebelumnya sudah dilap dengan alkohol 96%. Pengambilan *eksplan* dari kebun pangkas, dipilih batang muda (nodus ke-2) sepanjang 0,5-1,5 cm dari ujung tanaman. *Eksplan* yang diambil disterilisasi dahulu sebelum dibawa ke ruang inokulasi dengan menggunakan fungisida dan sabun cair. Sterilisasi *eksplan* juga dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet* dengan menggunakan alkohol 70%, akuades dan larutan tween. *Eksplan* yang telah disterilisasi tersebut siap ditanam dan dimasukkan dalam botol yang berisi media secara tegak lurus, tiap botol diisi satu *eksplan*. Langkah selanjutnya, menutup mulut botol dengan plastik PP secara aseptik dengan melewati pada api. *Eksplan* diletakkan pada tempat penyimpanan kultur (ruang inkubasi) yang keadaannya sudah diatur pada suhu ($\pm 24^{\circ}\text{C}$) dan cahaya ruang dengan menggunakan pencahayaan lampu TL.

Pengambilan data warna kalus dengan melihat warna kalus yang tampak pada pengamatan hari terakhir, sedangkan untuk pengamatan tekstur kalus dengan melihat kelekatan kalus terhadap *eksplan*. Kalus dikatakan remah apabila kalus terlihat kurang lekat terhadap *eksplan* dan kompak apabila kalus lekat

terhadap *eksplan*. Kalus yang kompak menunjukkan kalus yang mengalami lignifikasi dan kalus yang remah menunjukkan kalus yang masih aktif membelah dan bernodul-nodul. Pengambilan data tekstur kalus dilakukan pada akhir pengamatan. Data yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabel hasil pengamatan.

HASIL

Warna kalus dideskripsikan setelah pengamatan hari ke-60 dengan menggunakan pengamatan visual. Tekstur kalus diamati secara visual dengan melihat kelekatan kalus terhadap *eksplan*, remah apabila kalus terlihat kurang lekat terhadap *eksplan* dan kompak apabila kalus lekat terhadap *eksplan*. Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan, diperoleh warna dan tekstur kalus yang disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus batang jati, baik warna maupun tekstur kalus yang dihasilkan. *Eksplan* batang jati yang ditanam dalam media MS memberikan respon pertumbuhan dan organogenesis secara tidak langsung. Jaringan dalam batang jati yang bersifat totipotensi akan meristematik kembali setelah terjadi kontak dengan media MS. Auksin akan menyebabkan pengenduran dinding sel dan pengaktifan enzim pemutus ikatan hidrogen rantai selulosa dinding sel, dan diduga sitokinin mendorong terjadinya sintesis material membran dan dinding sel.

Penumbuhan *eksplan* batang jati secara *in vitro* menghasilkan warna kalus yang berbeda. Perbedaan warna kalus menunjukkan tingkat perkembangan dari kalus. Warna hijau pada kalus mengindikasikan kandungan klorofil yang tinggi dalam jaringan kalus jati. Warna putih pada kalus menunjukkan bahwa kalus mengandung amilum (pati) dan belum terdapat klorofil.

Kalus merupakan jaringan yang amorphous (tidak berbentuk atau belum terdiferensiasi) yang terbentuk ketika sel tanaman mengalami pembelahan yang tidak teratur (Zulkarnain, 2009). Kalus yang mulai tumbuh ditandai dengan membengkaknya *eksplan* terutama bagian irisan *eksplan* yang bersentuhan langsung dengan media dan munculnya bintik-bintik berwarna putih, setelah itu teksturnya menjadi agak kasar.

Tabel 1. Hasil pengamatan warna dan tekstur kalus batang jati secara *in vitro* dalam media MS pada berbagai kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP

Perlakuan	Pengulangan	Warna Kalus	Tekstur kalus	Keterangan
Kontrol	1	Putih kehijauan	Kompak	
	2	-	-	Kalus tidak tumbuh
	3	-	-	Kalus tidak tumbuh
	4	-	-	Kalus tidak tumbuh
	5	Putih kekuningan	Kompak	-
	6	-	-	<i>Eksplan</i> kontaminasi
A	1	Putih	Kompak	-
	2	-	-	Kalus tidak tumbuh
	3	Hijau	Kompak	-
	4	Hijau	Kompak	-
	5	-	-	<i>Eksplan</i> kontaminasi
	6	-	-	<i>Eksplan</i> kontaminasi
B	1	Coklat	Kompak	-
	2	Coklat	Kompak	-
	3	Putih kehijauan	Kompak	-
	4	-	-	<i>Eksplan</i> kontaminasi
	5	Coklat	Kompak	-
	6	-	-	Kalus tidak tumbuh
C	1	Hijau	Kompak	-
	2	Putih kehijauan	Kompak	-
	3	Hijau	Kompak	-
	4	-	-	Kalus tidak tumbuh
	5	-	-	<i>Eksplan</i> kontaminasi
	6	-	-	Kalus tidak tumbuh
D	1	Coklat	Kompak	-
	2	Hijau	Kompak	-
	3	-	-	<i>Eksplan</i> kontaminasi
	4	-	-	Kalus tidak tumbuh
	5	-	-	<i>Eksplan</i> kontaminasi
	6	Putih kehijauan	Kompak	-

Keterangan :

- Kontrol = Media MS tanpa penambahan ZPT
- A = Media MS dengan 2,4-D 0 ppm + BAP 1,5 ppm
- B = Media MS dengan 2,4-D 0,5 ppm + BAP 1,0 ppm
- C = Media MS dengan 2,4-D 1,0 ppm + BAP 0,5 ppm
- D = Media MS dengan 2,4-D 1,5 ppm + BAP 0 ppm

PEMBAHASAN

Pada perlakuan B, kalus yang dihasilkan menunjukkan pencoklatan (*browning*). Keadaan ini disebabkan karena adanya oksidasi dari senyawa fenol yang dihasilkan jaringan tanaman jati tersebut. Sintesis senyawa fenol dipacu oleh cekaman atau stres pada sel tanaman yang berupa cekaman luka pada jaringan dan cekaman dari media. Akumulasi senyawa fenol pada *eksplan* tersebut dapat menghambat, bahkan bersifat toksik bagi pertumbuhan *eksplan*.

Berbagai cara untuk menanggulangi masalah pencoklatan telah dilakukan, misalnya dengan penggunaan bahan anti oksidan (seperti polivinyl pirolidone atau PVP pada konsentrasi 0,01-2% dan asam askorvik sebanyak 50-200 mg/l) baik sebelum *eksplan* ditanam pada media

maupun penambahan bahan tersebut pada media kultur atau kombinasi keduanya. Pendekatan lain untuk menanggulangi masalah pencoklatan pada kultur tanaman jati, yaitu dengan subkultur atau transfer *eksplan* secara periodik dengan perlakuan waktu yang berbeda (Siregar, 2005).

Tekstur kalus pada semua perlakuan menunjukkan kalus yang kompak. Tekstur yang kompak menunjukkan kalus yang lekat terhadap *eksplan*. Menurut Hartmann dan Kester dalam Katuuk (1989) terjadi pembelahan sel hanya pada bagian meristematik pada bagian luar, tidak berlangsung pada seluruh bagian *eksplan*, setelah pembelahan sel bagian luar berkurang, maka kalus akan kelihatan membulat atau kompak

seperti pada kalus yang dihasilkan dari penanaman *eksplan* batang jati secara *in vitro*.

Banyak kelebihan yang dimiliki kalus kompak, salah satunya ialah kalus yang kompak nantinya akan menghasilkan *plantlet* yang lebih cepat bila dibandingkan dengan kalus yang bertekstur remah. Hal ini sangat mendukung tujuan penelitian dengan harapan kalus-kalus yang dihasilkan dari penanaman dapat dimultiplikasikan menjadi bibit tanaman jati yang unggul, kuat, tahan hama dan berdaur pendek guna memenuhi kebutuhan akan kayu jati di masyarakat.

Pada setiap perlakuan penelitian terjadi kontaminasi. Kontaminasi disebabkan oleh adanya infeksi bakteri dan jamur. Banyak faktor yang mempengaruhi terjadinya kontaminasi, baik secara internal maupun secara eksternal. Faktor internal dipengaruhi oleh *eksplan* itu sendiri. Faktor eksternal dipengaruhi oleh lingkungan yang kurang aseptik dan kelembaban yang tinggi sehingga jamur dan bakteri tumbuh dengan baik dalam media MS. Jamur tumbuh dengan mengembangkan benang hifa berwarna putih menyerang *eksplan* dan media, sedangkan infeksi bakteri menyebabkan media menjadi berlendir dan *eksplan* membusuk.

SIMPULAN

Penambahan 2,4-D dan BAP pada berbagai kombinasi konsentrasi berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus *eksplan* batang jati pada media MS secara *in vitro*. Kalus memiliki tekstur yang kompak dengan warna yang berbeda di setiap perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin A, 1990. *Dasar-dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung : Penerbit Angkasa.
Armaniar, 2001. *Pengaruh ZPT 2,4-D dan BAP pada Kultur Pucuk Jati (Tectona grandis L.)*

<http://repository.usu.ac.id>. Diunduh tanggal 08 November 2011.

- Hadi AQ dan RM Napitupulu, 2011. *10 Tanaman Investasi Pendulang Rupiah*. Depok : Penebar Swadaya.
Harjadi SS, 2009. *Zat Pengatur Tumbuh Pengenalan dan Petunjuk Penggunaan pada Tanaman*. Jakarta : Penebar Swadana.
Hermawan T, 2000. *Perbanyakan Vegetatif (Kultur Jaringan)*. Yogyakarta : BPPPTH.
Katuuk JRP, 1989. *Teknik Kultur Jaringan dalam Mikropropagasi Tanaman*. Jakarta : Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
Natsir M, 2002. *Bioteknologi Molekuler Teknik Rekayasa Genetik Tanaman*. Bandung : PT. Citra Aditya Bakti.
Pierik RLM, 1987. *In vitro Culture of Hinger Plant*. Netherland : Martinus Nijhoff Publisher.
Salisbury FB dan CW Ross, 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. Bandung : ITB.
Siregar EBM, 2005. *Potensi Budidaya Jati*. <http://library.usu.ac.id/download/fp/hutan-edi%20batara10.pdf>. Diunduh tanggal 16 Desember 2012.
Siskhana, 2009. *Media Murashige dan Skoog*. <http://siskhana.blogspot.com/2009/09/media-murashige-dan-skoogms.html>. Diunduh tanggal 16 Mei 2011.
Sukmadjaja D dan I Mariska, 2003. *Perbanyakn Bibit Jati melalui Kultur Jaringan*. Bogor : Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik - Pertanian.
Wasrin UR, 2008. *Perhutani Harus Berubah, Standing Stock Jati Terus Menurun*. <http://www.unit2.perumperhutani.com>. Diunduh tanggal 10 Mei 2012.
Wattimena GA, LW Gunawan, NA Mattjik, E Syamsudin, NMA Wiendi dan A Ernawati, 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor : Institut Pertanian Bogor Press.
Wetter LR dan F Constabel, 1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. Bandung : ITB.
Zulkarnain, 2009. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta : Bumi Aksara.